

## Laporan Penelitian

**Antioksidan dan Komposisi Kimia  
*Essential Oil Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh.**



Oleh

Sajaratud Dur, S.T., M.T.  
NIP. 19731013 200501 2 005

**FAKULTAS TARBIYAH  
INSTITUT AGAMA ISLAM NEGERI  
SUMATERA UTARA  
2012**

## LEMBAR PENGESAHAN

Penelitian yang berjudul “**Antioksidan dan Komposisi Kimia *Essential Oil Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh.**” Disusun untuk memenuhi syarat pengajuan kenaikan pangkat dari Lektor III/c menjadi Lektor III/d, dan telah disetujui oleh :

Konsultan Penelitian,

Prof. Dr. Syafaruddin, M.Pd.

## ABSTRAK

Penelitian yang berjudul antioksidan dan komposisi kimia dari *essential oil* dari *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh. didisain untuk menentukan komposisi *essential oil* daun – daunan *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. dan menguji aktifitas antioksidan. Komposisi kimia *essential oil* dari daun – daunan *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. dianalisa oleh GC/GC-MS, 29 komponen menghadirkan 99.10% total oil yang teridentifikasi. Komponen terbesarnya adalah *p*-cymene (68.43%), 1,8-cineole (13.92%), 1-(S)- $\alpha$ -pinene (3.45%) dan R-(+)- limonene (2.84%). Antioksidan *essential oil* dievaluasi menggunakan inhibisi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, hydroxyl, dan superoxide radicals, inhibisi hydrogen peroxide dan tes lipid peroxidasi. .

**Keywords:** Antioksidan, *Essential oil*, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, GC-MS.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberi rizki dan nikmat kesehatan, waktu, finansial dan kemudahan dalam menyelesaikan penelitian dan laporan penelitian ini. Salawat beriring salam diberikan kepada Nabi dan Rasulullah Muhammad SAW, sebagai rahmatan lil-'alamin.

Terimakasih diucapkan kepada semua pihak yang telah membantu penelitian dan laporan penelitian ini terutama keluarga yang sangat mendukung, juga senior saya Dr.Lely Risnawaty Daulay yang sekarang telah berpulang kerahmatullah dan yang lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu dan semoga Allah SWT memberi limpahan rahmatNYA kepada kita semua.

Disadari bahwa masih ada kekurangan dalam penulisan laporan penelitian ini dan dalam penelitian ini sendiri yang dapat disempurnakan dalam penelitian berikutnya.

Hormat saya,  
Penulis,  
Sajaratud Dur, M.T.

## DAFTAR ISI

Lembar pengesahan	i
Abstrak	ii
Kata Pengantar	iii
Daftar Isi	iv
Daftar Tabel	v
Daftar Gambar	vi

## DAFTAR TABEL

<b>Table IV.1.</b> Analysis GC-MS <i>Essential Oil</i> dari <i>Eucalyptus Camaldulensis</i> Dehnh.	49-50
--	-------

## DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 : gambar daun Eucalyptus Camaldulensis	9
Gambar II.2 : gambar bunga Eucalyptus Camaldulensis	10
Gambar II.3 : gambar pohon Eucalyptus Camaldulensis	10
Gambar III.1. A. Kerja enzim seperti gembok-anak kunci, B. Inhibitor kompetitif dan non kompetitif (Campbell, 2006)	36

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **I.1 Latar belakang**

Organisme aerobik dalam kebutuhan oxygen molecular absolut untuk survive, oxygen dalam konsentrasi yang tinggi mempunyai efek toksik. Efek toksik disebabkan oleh spesies reaktif yang disebut “oxygen radicals” [1]. Beberapa spesies oxygen reaktif (ROS), termasuk hydrogen peroxide, singlet oxygen, hydroxyl dan superoxide radicals, mempunyai aturan positif dalam produksi energy dalam sistem *in vivo*, phagocytosis, transfer signal intersellular, regulasi pertumbuhan sel dan synthesis komponen biologi penting [2]. ROS memodifikasi DNA dan membran dengan menyerang lipid, protein, dan karbohidrat dalam membran sel dan jaringan [3]. Sistem pertahanan (defense) yang bekerja untuk mencegah kerusakan ROS dalam tubuh disebut sistem defense antioksidan [4].

Selain Diabetes Mellitus, serangan jantung dan stroke adalah penyebab kematian yang tergolong menakutkan dan disebut-sebut sebagai “Silent Killers” karena gejala pertama yang muncul dari penyakit ini biasanya mematikan atau fatal. Namun sebenarnya gejala utama dari

penyakit ini, yaitu arteriosclerosis atau pengerasan arteri dapat dicegah dan sepenuhnya berada dalam kontrol kita.

Banyak orang salah mengira bahwa kolesterol dari makanan berpengaruh besar terhadap penyakit jantung, namun pada kenyataannya dietari kolesterol dari makanan kita sehari-hari tidak mempunyai dampak sedemikiannya terhadap penyakit jantung.

Tubuh kita telah dibentuk sedemikian sempurnanya dalam mentransportasikan lemak dalam tubuh sehingga kolesterol tidak akan menumpuk di arteri kita sedemikian mudahnya layaknya lumpur yang menggumpal di ujung kali. Tubuh kita memiliki lipoprotein yang bekerja begitu sempurnanya dalam mentransportasikan kolesterol ke sel-sel tubuh pada saat kita membutuhkan (LDL) dan mengambil kelebihan kolesterol yang tidak dibutuhkan oleh tubuh (HDL), jadi tubuh kita mempunyai kontrol yang hebat dalam mengatur kelebihan dan transportasi kolesterol.

Namun, LDL dapat dirusak oleh proses oksidasi ataupun radikal bebas yang disebabkan oleh kekurangan asupan antioksidan dalam tubuh. LDL yang teroksidasi akan diikat oleh reseptor-reseptor di sel arteri, dan apabila LDL teroksidasi ini menumpuk secara terus-menerus

hingga melebihi kemampuan tubuh untuk menghancurkannya, sel tubuh kita akan mulai rusak dan deposit kolesterol akan terbentuk. Sejalan dengan menumpuknya plak kolesterol dalam arteri, lubang arteri akan semakin mengecil, sehingga aliran darah dalam arteri akan semakin sedikit dan pada saat yang bersamaan tekanan darah anda akan meningkat. Sebagai akibatnya, jantung harus bekerja lebih keras untuk memompa darah karena lebih tingginya resistensi. Menurut Dr. James F. Balch, bagian terburuk dari penyakit ini adalah anda tidak akan menyadari penumpukan kolesterol ini hingga pembuluh arteri anda tersumbat hingga 90%.

Jadi, penyakit jantung bukan semata-mata disebabkan karena kelebihan kolesterol, namun disebabkan oleh kekurangan asupan antioksidan dalam tubuh. Menurut Richard A. Passwater Ph.D, orang dengan resiko tinggi terserang penyakit jantung adalah orang-orang yang kekurangan asupan vitamin E. Ia juga mengatakan bahwa karena antioksidan bekerja secara sinergis, jenis antioksidan lainnya selain Vitamin E juga memegang peranan penting dalam memerangi penyakit jantung.



Perbaikan dalam pola makan, gaya hidup, makanan bergizi, dan asupan suplemen yang tepat akan mengurangi kerusakan-kerusakan tubuh tersebut, dan melawan penyakit jantung ataupun stroke.

## **I.2 Rumusan masalah**

Yang menjadi permasalahan pada penelitian ini adalah :

1. Apakah komposisi kimiawi dari essential oil *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh?
2. Apakah essential oil *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh mempunyai sifat – sifat antioksidant ?

Maka sifat – sifat antioxidant dari essential oil *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh perlu dievaluasi dengan menggunakan inhibisi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, hydroxyl, dan superoxide radicals, inhibisi hydrogen peroxide dan tes lipid peroxidasi.

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini dikerjakan dengan tujuan untuk :

1. menentukan komposisi essential oil daun – daunan *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.
2. menguji aktifitas antioksidan

#### **I.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini memberi manfaat bahwa antioksidan dapat diperoleh dari essential oil *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

Dalam organisme, laju produksi dan perpindahan radikal bebas adalah seimbang, sebagaimana diketahui seperti kesetimbangan oksidatif. Suatu peningkatan dalam laju produksi atau penurunan dalam laju perpindahan mengganggu kesetimbangan ini dan peningkatan level ROS. Kondisi ini yang disebut stress oksidatif, mengindikasikan suatu ketidaksetimbangan yang serius antara produksi radikal bebas dan sistem defense oksidant, berhasil dalam kerusakan tissue (jaringan) [5]. Hubungan antara ROS dan banyak penyakit, termasuk myocardial infarction, gangguan neurologi, asthma, diabetes, rheumatoid arthritis, kanker dan penuaan, telah diobservasi [6].

### **I.1 Eucalyptus Camaldulensis Dehnh**

Menurut El – Bageed dkk (2011) species eucalyptus yaitu camaldulensis, citriodora, gomphocephala, dan resinifera. Klasifikasi Eucalyptus Camaladulensis adalah

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Myrtales

Suku : Myrtaceae

Marga : Eucalyptus

Jenis : Eucalyptus Camaldulensis

Komponen mayor dalam E. Camaldulensis Dehnh adalah megastigma 3,7(Z), 9-triene, dihydrocarveol acetate, cis-nerolidol, kauran-18-al, 17-(acetyloxy)-, (4,β.)-, dan (-)-spathulenol. Family myrtaceae membandingkan 3800 spesies yang didistribusikan dalam 140 genera yang terjadi sepanjang daerah tropik dan subtropik terutama australia dan pusat dan amreika selatan.

Essential oil dari Eucalyptus camaldulensis Dehnh khususnya dari daun – daunan telah dipelajari lebih luas. Dua komponen utama adalah spathulenol dan p-cymene dideteksi dari pohon di Morocco, 1,8-cineole dan β-pinene dari Mozambique, p-cymene dan spathulenol dari Jerussalem, 1,8-cineole dan limonene dari Burundi.

Essential oils ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan, seperti daun, bunga, akar dan batang, dan tersimpan dalam sel oil dan pintu gerbang spesial. Ekstrak essential oil yang diekstrak dari tumbuhan adalah material yang sangat diperlukan dalam farmasi, sektor makanan dan kosmetik. Sebagian besar essential oil digunakan sebagai

wewangian dalam parfum dan sebagai pemberi aroma dalam industri makanan. Essential oil mempunyai sejumlah aktifitas biologi, termasuk sifat – sifat antibakterial, antifungal dan antioxidant [11,12]. Myrtaceae merupakan tanaman milik famili (Myrtle). Tiga eucalyptus yang tumbuh di Selatan Anatolia diketahui sebagai 'Adana eucalyptus'. Material ini digunakan dalam study kami yang berasal dari daun *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (Myrtaceae). Panjangnya 15-30 cm, lebar 2-5 cm, keras, garing dan berwarna hijau kekuningan (yellowish green) [13]. Ratusan spesis *Eucalyptus* mengandung volatile oil yang mana dapat diklasifikasikan ke dalam 3 type; medicinal, perfumery dan industrial [14]. Beberapa studi telah didemonstrasikan bahwa ekstrak daun dan essential oil *Eucalyptus* spp. mempunyai aktifitas antifungal, penolak, antibacterial, analgesic dan anti-inflammasi [15,16]. Di India, essential oil dari daun secara tradisional digunakan secara external sebagai penolak nyamuk dan sebagai insektisida. Di Spanyol, essential oil buah – buahan dan daun secara tradisional digunakan dalam terapi inhalasi therapy selama pengobatan pilek dan penyakit selesema [17]. Di Francis, Spanyol dan Guetamala, ekstrak air panas daun diambil secara oral sebagai hypolycemic [17]. Di Turkey, oil *Eucalyptus* bau camphor,

mengakibatkan sistem nervous/syaraf dan penyediaan bantuan perasaan.

Selain itu, hal itu digunakan secara lokal untuk menghentikan pendarahan, diaplikasikan dengan memijat untuk menghentikan sakit kepala migraine, dapat dikunyah untuk mengolah sesak napas, bronchitis kronis, batuk, tuberculosis, penyakit gusi dan mulut, dan malaria, dan dapat diaplikasikan sebagai material pakaian wanita untuk mengobati luka dan inflammasi [13].



Gambar II.1 : gambar daun Eucalyptus Camaldulensis



Gambar II.2 : gambar bunga Eucalyptus Camaldulensis



Gambar II.3 : gambar pohon Eucalyptus Camaldulensis

## II.2 Antioksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan

Telah kita ketahui bersama bahwa kesehatan merupakan hal terpenting dan utama dalam kehidupan manusia dibandingkan lainnya seperti jabatan, kekuasaan, pangkat, ataupun kekayaan. Tanpa kesehatan yang optimal, semuanya akan menjadi tidak bermakna, oleh karena itulah sehat dan bugar merupakan dambaan setiap orang.

Studi epidemiologi menunjukkan ada kaitan erat antara status kesehatan dan usia harapan hidup manusia dengan pola konsumsinya. Masyarakat di daerah yang banyak mengkonsumsi protein, lemak, gula dan garam misalnya, ternyata lebih banyak ditemukan sebagai penderita penyakit-penyakit degeneratif dibandingkan masyarakat di wilayah yang banyak mengkonsumsi karbohidrat, serat dan vitamin.

Negara dengan mayoritas penduduk berusia panjang seperti Jepang, mengkonsumsi makanan yang kaya akan kacang-kacangan, sayur dan buah serta berkebiasaan minum teh hijau. Masyarakat eskimo yang hidupnya tidak lepas dari konsumsi ikan, jarang sekali ditemukan sebagai penderita penyakit jantung. Kelompok masyarakat yang terbiasa mengkonsumsi susu fermentasi ternyata juga mempunyai rata-rata usia yang lebih panjang.



Peningkatan prevalensi penyakit degeneratif di Indonesia, memotivasi para peneliti pangan dan gizi Indonesia untuk mengeksplorasi senyawa-senyawa antioksidan yang berasal dari sumber alami. Tingginya biodiversity kekayaan alam dan bahan-bahan indigenous yang dianugerahkan oleh Tuhan kepada bangsa Indonesia merupakan potensi yang sangat berharga dan bermanfaat untuk kesehatan masyarakatnya.

### **II.3 Antioksidan dan sumber-sumbernya**

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rossell, 1990).

Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami).

Beberapa contoh antioksidan sintetis yang diizinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering

digunakan, yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, tert-butil hidoksi quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial.

Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, (b) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, (c) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Pratt, 1992).

Senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah yang berasal dari tumbuhan. Kingdom tumbuhan, Angiosperm memiliki kira-kira 250.000 sampai 300.000 spesies dan dari jumlah ini kurang lebih 400 spesies yang telah dikenal dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari (Pratt, 1992).

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain.

Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) biasa digunakan sebagai bumbu atau obat tradisional. Komponen-komponen pedas dari jahe seperti 6-gingerol dan 6-shogaol dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang cukup. Dari ekstrak jahe yang telah dibuang komponen volatilnya dengan destilasi uap, maka dari fraksi non volatilnya setelah pemurnian, ditemukan adanya empat senyawa turunan gingerol dan empat macam diarilheptanoid yang memiliki aktivitas antioksidan kuat (Nakatani, 1992).

Ada beberapa senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan telah berhasil diisolasi dari kedelai (*Glycine max* L.), salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid kedelai adalah unik dimana dari semua flavonoid yang terisolasi dan teridentifikasi adalah isoflavon.

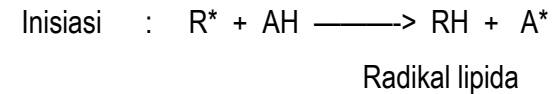
## II.4 Mekanisme kerja antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ( $R^*$ ,  $ROO^*$ ) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan ( $A^*$ ) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida.

Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1990).

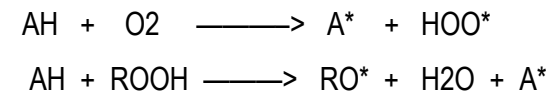
Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi (Gambar 1). Radikal-radikal antioksidan ( $A^*$ ) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat

bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990).



Gambar 1. Reaksi Penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida (Gordon 1990).

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Gambar 2). Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji.



Gambar 2. Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi (Gordon 1990).

## II.5 Peranan antioksidan pada kesehatan

Proses penuaan dan penyakit degeneratif seperti kanker kardiovaskuler, penyumbatan pembuluh darah yang meliputi hiperlipidemik, aterosklerosis, stroke, dan tekanan darah tinggi serta terganggunya sistem imun tubuh dapat disebabkan oleh stress oksidatif.

Stress oksidatif adalah keadaan tidak seimbangnya jumlah oksidan dan prooksidan dalam tubuh. Pada kondisi ini, aktivitas molekul radikal bebas atau reactive oxygen species (ROS) dapat menimbulkan kerusakan seluler dan genetika. Kekurangan zat gizi dan adanya senyawa xenobiotik dari makanan atau lingkungan yang terpolusi akan memperparah keadaan tersebut.

Bila umumnya masyarakat Jepang atau beberapa masyarakat Asia jarang mempunyai masalah dengan berbagai penyakit degeneratif, hal ini disebabkan oleh menu sehat tradisionalnya yang kaya zat gizi dan komponen bioaktif. Zat-zat ini mempunyai kemampuan sebagai antioksidan, yang berperan penting dalam menghambat reaksi kimia oksidasi, yang dapat merusak makromolekul dan dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan.

## II.6 Antioksidan vs kardiovaskular dan kanker

Peran positif antioksidan terhadap penyakit kanker dan kardiovaskular (terutama yang diakibatkan oleh aterosklerosis/penyumbatan dan penyempitan pembuluh darah) juga banyak diteliti. Antioksidan berperan dalam melindungi lipoprotein densitas rendah (LDL) dan sangat rendah (VLDL) dari reaksi oksidasi.

Pencegahan aterosklerosis ini dapat dilakukan dengan menghambat oksidasi LDL menggunakan antioksidan yang banyak ditemukan pada bahan pangan.

Adapun untuk kanker dan tumor banyak ilmuwan spesialis setuju bahwa penyakit ini berawal dari mutasi gen atau DNA sel. Perubahan pada mutasi gen dapat terjadi melalui mekanisme kesalahan replikasi dan kesalahan genetika yang berkisar antara 10-15 %, atau faktor dari luar yang merubah struktur DNA seperti virus, polusi, radiasi, dan senyawa xenobiotik dari konsumsi pangan sebesar 80-85 %. Radikal bebas dan reaksi oksidasi berantai yang dihasilkan jelas berperan pada proses mutasi ini. Dan resiko ini sebenarnya dapat dikurangi dengan mengkonsumsi antioksidan dalam jumlah yang cukup.

Hasil oksidasi lemak pada makanan ternyata mempunyai dampak besar terhadap kesehatan manusia yang mengkonsumsinya. Pengetahuan bagaimana cara pencegahan proses oksidasi ini sangat diperlukan, yang pada gilirannya sangat bermanfaat pada pemeliharaan kesehatan setiap individu. Pengetahuan berbagai jenis antioksidan yang ada di alam serta manfaatnya bagi kesehatan tubuh sangat membantu kita dalam mengatur pola makan untuk mendapatkan tubuh sehat dan bugar.

Berbagai kajian dan studi tentang antioksidan masih perlu dilakukan mengingat manfaatnya yang besar bagi kesehatan. Bahan-bahan alam dari laut seperti tumbuhan mikro alga dan hewan laut perlu di eksplorasi karena kandungan bioaktifnya terutama antioksidan belum secara tuntas dieksplorasi.

## **II.7 Antioksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan**

Telah kita ketahui bersama bahwa kesehatan merupakan hal terpenting dan utama dalam kehidupan manusia dibandingkan lainnya seperti jabatan, kekuasaan, pangkat, ataupun kekayaan. Tanpa kesehatan yang optimal, semuanya akan menjadi tidak bermakna, oleh karena itulah sehat dan bugar merupakan dambaan setiap orang. Studi epidemiologi menunjukkan ada kaitan erat antara status kesehatan dan



usia harapan hidup manusia dengan pola konsumsinya. Masyarakat di daerah yang banyak mengkonsumsi protein, lemak, gula dan garam misalnya, ternyata lebih banyak ditemukan sebagai penderita penyakit-penyakit degeneratif dibandingkan masyarakat di wilayah yang banyak mengkonsumsi karbohidrat, serat dan vitamin.

Negara dengan mayoritas penduduk berusia panjang seperti Jepang, mengkonsumsi makanan yang kaya akan kacang-kacangan, sayur dan buah serta berkebiasaan minum teh hijau. Masyarakat eskimo yang hidupnya tidak lepas dari konsumsi ikan, jarang sekali ditemukan sebagai penderita penyakit jantung. Kelompok masyarakat yang terbiasa mengkonsumsi susu fermentasi ternyata juga mempunyai rata-rata usia yang lebih panjang.

Peningkatan prevalensi penyakit degeneratif di Indonesia, memotivasi para peneliti pangan dan gizi Indonesia untuk mengeksplorasi senyawa-senyawa antioksidan yang berasal dari sumber alami. Tingginya biodiversity kekayaan alam dan bahan-bahan indigenous yang dianugerahkan oleh Tuhan kepada bangsa Indonesia, merupakan potensi yang sangat berharga dan bermanfaat untuk kesehatan masyarakatnya.

## II.8 Antioksidan dan sumber-sumbernya

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rossell, 1990).

Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami).

Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, tert-butil hidoksi quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial.

Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, (b) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi

selama proses pengolahan, (c) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Pratt, 1992).

Senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah yang berasal dari tumbuhan. Kingdom tumbuhan, Angiosperm memiliki kira-kira 250.000 sampai 300.000 spesies dan dari jumlah ini kurang lebih 400 spesies yang telah dikenal dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari (Pratt, 1992).

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain.

Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) biasa digunakan sebagai bumbu atau obat tradisional. Komponen-komponen pedas dari jahe seperti 6 gingerol dan 6-shogaol dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang cukup. Dari ekstrak jahe yang telah dibuang komponen volatilnya dengan destilasi uap, maka dari fraksi non volatilnya setelah pemurnian, ditemukan adanya empat senyawa turunan gingerol dan empat macam diarilheptanoid yang memiliki aktivitas antioksidan kuat (Nakatani,1992).

Ada beberapa senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan telah berhasil diisolasi dari kedelai (*Glycine max* L.), salah satunya adalah flavonoid. Flavonoid kedelai adalah unik dimana dari semua flavonoid yang terisolasi dan teridentifikasi adalah isoflavon.

## **II.9 Fungsi Antioksidan Bagi Tubuh dan sumbernya**

Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat oksidasi molekul-molekul lain di dalam tubuh. Oksidasi itu sendiri adalah reaksi kimi yang mentransfer elektron atau hidrogen dari suatu zat ke agen oksidator. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia. Lebih spesifik lagi, proses oksidasi dapat menyebabkan kerusakan membran sel tubuh manusia dan struktur lainnya, termasuk protein selular, lipid, dan DNA.

Aktivitas lingkungan biasanya dapat memunculkan radikal bebas antara lain radiasi, polusi, merokok, dan sebagainya. Bisa Anda bayangkan bagaimana radikal bebas itu “berseliweran” tanpa terkontrol di zaman saat ini. Maka tak usah heran jika saat ini, banyak dari sebagian besar manusia di dunia memiliki struktur sel dalam tubuh yang tidak stabil. Efeknya, ketidakstabilan sel tersebut dapat memicu terjadinya proses penuaan dini dan kanker. Oleh sebab itu, kita butuh antioksidan. Antioksidan melindungi tubuh dari serangan radikal. Vitamin, polipenol, karoten, dan mineral adalah beberapa antioksidan yang dibutuhkan oleh tubuh guna mencegah serangan tersebut. Antioksidan mencegah kita supaya tak gampang sakit dengan menekan kerusakan sel yang terjadi akibat proses oksidasi radikal bebas.

Nah, bagaimana antioksidan itu sebenarnya bekerja di dalam tubuh? Antioksidan mencegah proses kerusakan sel dengan cara mentransfer elektron kepada radikal bebas. Seperti obat penawar, antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga mereka tidak lagi memiliki kemampuan mencuri elektron dari sel dan DNA manusia.

Penyakit-penyakit seperti kanker, jantung, pikun, katarak, dan penurunan fungsi kognitif disebabkan oleh peran pencurian elektron itu

oleh radikal bebas. Proses penuaan dini juga ternyata terjadi karena efek radikal bebas yang terlalu banyak di dalam tubuh kita. Setelah kita paham bagaimana fungsi antioksidan dalam tubuh, lantas darimana kita bisa mendapatkan sumber antioksidan tersebut?

Makanan yang kita makan sehari-hari, jika diteliti lebih dalam, adalah sumber antioksidan. Sayangnya, banyak dari kita yang kurang paham nutrisi yang dikandung oleh makanan tersebut, sehingga terpaksa membeli suplemen antioksidan yang harganya selangit. Nah, berikut ini adalah beberapa sumber makanan yang mengandung antioksidan dan dipercaya mampu mencegah beberapa penyakit :

Vitamin A : wortel, brokoli, sayur hijau, labu, hati, kentang, telur, aprikot, mangga, susu,

dan ikan.

Vitamin C : lada/merica, cabe, peterseli, jambu biji, kiwi, brokoli, tauge, kesemek, pepaya,

stroberi, jeruk, lemon, bunga kol, bawang putih, anggur, raspberri, jeruk

kepruk, bayam, tomat, dan nanas.

Vitamin E : asparagus, alpukat, buah zaitun, bayam, kacang-kacangan, biji-bijian, minyak

sayur, dan sereal.

Karoten : beta karoten, likopen, wortel, labu, sayur-sayuran hijau, buah-buah yang

berwarna merah, tomat, dan rumput laut.

Polipenol : buah beri, teh, bir, anggur, minyak zaitun, coklat, kopi, buah kenari, kacang,

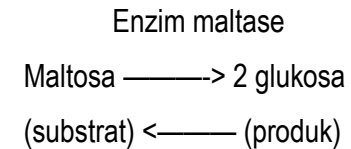
kulit buah, buah delima, dan minuman anggur.

## **II.10 Enzim dan Peranannya**

Reaksi-reaksi yang berlangsung di dalam tubuh makhluk hidup bekerja secara optimal pada suhu 30°C (suhu ruang), misalnya pada suhu tubuh tumbuhan. Sedangkan di dalam tubuh hewan homiothermis berlangsung pada suhu 37°C. Pada suhu tersebut proses oksidasi akan berjalan lambat. Agar reaksi-reaksi berjalan lebih cepat diperlukan katalisator.

Katalisator adalah zat yang dapat mempercepat reaksi tetapi zat tersebut tidak ikut bereaksi. Dalam sel makhluk hidup, reaksi-reaksi kimia dapat berlangsung dengan cepat karena adanya katalisator hidup

atau biokatalisator, yaitu : enzim. Enzim merupakan pengatur suatu reaksi. Berikut ini adalah contoh reaksi yang diatur oleh enzim. Contohnya:



Bahan tempat enzim bekerja disebut substrat. Dalam contoh reaksi di atas substratnya adalah maltosa. Bahan baru atau materi yang dibentuk sebagai hasil reaksi disebut produk. Dalam contoh reaksi di atas hanya ada 1 produk yaitu glukosa. Enzim yang mengkatalisis adalah maltase. Reaksi tersebut dapat berlangsung ke arah sebaliknya. Dengan kata lain reaksinya dua arah (reversible), maltosa dapat berubah menjadi glukosa dan glukosa dapat berubah menjadi maltosa. Enzim yang bekerja di kedua reaksi adalah maltase. Jika terdapat maltosa lebih banyak daripada glukosa, reaksi berlangsung dari kiri ke kanan. Sebaliknya, jika glukosa terdapat lebih banyak daripada maltosa, maka reaksi berlangsung dari kanan ke kiri.

#### II.10.1. Susunan enzim



Secara kimia, enzim yang lengkap (holoenzim) tersusun atas dua bagian, yaitu bagian protein dan bagian yang bukan protein. Bagian protein disebut apoenzim, bersifat labil (mudah berubah), misalnya terpengaruh oleh suhu dan keasaman. Bagian yang bukan protein disebut gugus prostetik (aktif), terdiri atas kofaktor atau koenzim. Kofaktor berasal dari molekul anorganik, yaitu logam, misalnya besi, tembaga, dan seng. Sedangkan koenzim merupakan gugus prostetik terdiri atas senyawa organik kompleks, misalnya NADH, FADH, koenzim A, dan vitamin B.

#### II.10.2. Ciri-ciri enzim

Enzim merupakan suatu protein yang bekerja secara khusus, dapat digunakan berulang kali, rusak oleh panas tinggi, terpengaruh oleh pH, diperlukan dalam jumlah sedikit, dan dapat bekerja secara bolak-balik.

##### II.10.2.1. Protein

Sebagian besar enzim (kecuali ribozime), adalah protein. Dengan demikian sifat-sifat yang dimilikinya sama dengan sifat protein, yaitu: menggumpal pada suhu tinggi dan terpengaruh oleh pH

#### II.10.2.2. Bekerja secara khusus

Enzim tertentu hanya dapat mempengaruhi reaksi tertentu, dan tidak dapat mempengaruhi reaksi lainnya. Sebagai contoh: di dalam usus rayap terdapat protozoa yang menghasilkan enzim selulase sehingga rayap dapat hidup dengan makan kayu karena dapat mencerna selulosa (salah satu jenis karbohidrat/polisakarida). Sebaliknya manusia tidak dapat mencerna kayu, meskipun mempunyai enzim amilase, yaitu enzim yang dapat mencerna amilum/pati (yang juga merupakan jenis polisakarida). Enzim amilase dan selulase masing-masing bekerja secara khusus.

#### II.10.2.3. Dapat digunakan berulang kali

Enzim dapat digunakan berulang kali karena enzim tidak berubah pada saat terjadi reaksi. Meskipun dalam jumlah sedikit, adanya enzim dalam suatu reaksi yang dikatalisirnya akan mempercepat reaksi, karena enzim yang telah bekerja dalam reaksi tersebut dapat digunakan kembali.

#### II.10.2.4. Rusak oleh panas

Enzim adalah suatu protein yang dapat rusak oleh panas disebut denaturasi. Kebanyakan enzim rusak pada suhu di atas 50°C.

Reaksi kimia akan meningkat dua kali lipat dengan kenaikan suhu sebesar 10°C. Kenaikan suhu di atas suhu 50°C tidak dapat meningkatkan reaksi yang dikatalisir oleh enzim, tetapi justru menurunkan atau menghentikan reaksi tersebut. Hal ini disebabkan enzimnya rusak sehingga enzim tersebut tidak dapat bekerja. Demikian juga apabila kita memesan enzim-enzim dari perjalanan, dan enzim tersebut disimpan dalam lemari es. Suhu rendah tidak merusak enzim tetapi hanya menonaktifkannya saja.

#### II.10.2.5. Diperlukan dalam jumlah sedikit

Oleh karena enzim berfungsi sebagai mempercepat reaksi, tetapi tidak ikut bereaksi, maka jumlah yang dipakai sebagai katalis tidak perlu banyak. Satu molekul enzim dapat bekerja berkali-kali, selama molekul tersebut tidak rusak.

#### II.10.2.6. Dapat bekerja bolak-balik

Umumnya enzim dapat bekerja secara bolak-balik. Artinya, suatu enzim dapat bekerja menguraikan suatu senyawa menjadi senyawa-senyawa lain, dan sebaliknya dapat pula bekerja menyusun senyawa-senyawa itu menjadi senyawa semula. Pada tumbuhan, proses fotosintesis menghasilkan glukosa. Apabila glukosa yang dihasilkan

dalam jumlah banyak, maka glukosa tersebut diubah dan disimpan dalam bentuk pati. Pada saat diperlukan, misalnya untuk pertumbuhan, pati yang disimpan sebagai cadangan makanan tersebut diubah kembali menjadi glukosa.

#### II.10.2.7. Kerja enzim dipengaruhi lingkungan

Lingkungan yang berpengaruh pada kerja enzim adalah suhu, pH, hasil akhir, dan zat penghambat.

##### II.10.2.7.1 Suhu

Enzim bekerja optimal pada suhu 30°C atau pada suhu tubuh dan akan rusak pada suhu tinggi. Biasanya enzim bersifat nonaktif pada suhu rendah (0°C atau di bawahnya), tetapi tidak rusak. Jika suhunya kembali normal enzim mampu bekerja kembali. Sementara pada suhu tinggi, enzim rusak dan tidak dapat berfungsi kembali.

##### II.10.2.7.2. pH

Enzim bekerja optimal pada pH tertentu, umumnya pada pH netral. Pada kondisi asam atau basa, kerja enzim terhambat. Agar enzim dapat bekerja secara maksimal, pada penelitian/percobaan yang menggunakan enzim, kondisi pH larutan dijaga agar tidak berubah, yaitu dengan menggunakan larutan penyangga (buffer)

#### II.10.2.7.3. Hasil akhir

Kerja enzim dipengaruhi hasil akhir. Hasil akhir yang menumpuk menyebabkan enzim sulit “bertemu” dengan substrat. Semakin menumpuk hasil akhir, semakin lambat kerja enzim.

#### II.10.2.7.4. Zat penghambat

Zat yang dapat menghambat kerja enzim disebut zat penghambat atau inhibitor. Zat tersebut memiliki struktur seperti enzim yang dapat masuk ke substrat, atau ada yang memiliki struktur seperti substrat sehingga enzim salah masuk ke penghambat tersebut. Hal ini dapat dijelaskan sebagai berikut: semisal enzim itu anak kunci, terdapat zat penghambat (inhibitor) yang:

- strukturnya mirip anak kunci (enzim), sehingga zat penghambat itu dapat masuk ke dalam gembok kunci (substrat).
- bentuknya mirip gembok kunci (substrat), sehingga enzim sebagai anak kunci “keliru masuk” ke anak kunci palsu.

#### II.10.3. Penamaan enzim

Enzim diberi nama sesuai dengan substratnya, diberikan akhiran ase.

- a. Enzim selulase, adalah enzim yang dapat menguraikan selulosa.

- b. Enzim lipase, menguraikan lipid atau lemak.
- c. Enzim protease, menguraikan protein.
- d. Enzim karbohidrase, menguraikan karbohidrat.

Karbohidrase merupakan suatu kelompok enzim. Termasuk di dalamnya amilase, menguraikan amilum menjadi maltosa dan maltase, menguraikan maltosa menjadi glukosa. Ada dua cara penamaan enzim, yaitu secara sistematis (berdasarkan atas reaksi yang terjadi) dan trivial (nama singkat).

Contohnya:

ATP + glukosa → ADP + Glukosa 6-Fosfat

Nama sistematis: ATP: Glukosa 6-Fosfat

Nama trivial : Heksokinase

Dengan berkembangnya ilmu genetika dan dilakukannya berbagai percobaan di bidang ini, dapat dibuktikan bahwa pembentukan enzim atau kelompok enzim diatur oleh gen atau kelompok gen dalam kromosom. George Beadle dan Edward Tatum mendapat hadiah novel pada tahun 1958 atas jasa mereka menemukan gen pengendali sintesis protein dan enzim yang disimpulkan dalam suatu teori “one gene, one enzyme”.

#### II.10.4. Cara kerja enzim

Molekul selalu bergerak dan bertumbukan satu sama lain. Jika suatu molekul substrat menumbuk molekul enzim yang tepat, maka akan menempel pada enzim. Tempat menempelnya molekul substrat pada enzim disebut sisi aktif. Kemudian terjadi reaksi dan terbentuk molekul produk. Ada 2 teori mengenai kerja enzim, yaitu:

a. Teori gembok anak kunci (key-lock)

Sisi aktif enzim mempunyai bentuk tertentu yang hanya sesuai untuk satu jenis substrat saja Gambar 3.4 A) Substrat sesuai dengan sisi aktif seperti gembok kunci dengan anak kuncinya. Hal itu menyebabkan enzim bekerja secara spesifik. Jika enzim mengalami denaturasi (rusak) karena panas, bentuk sisi aktif berubah sehingga substrat tidak sesuai lagi. Perubahan pH juga mempunyai pengaruh yang sama.

b. Teori cocok terinduksi (induced fit).

Sisi aktif enzim lebih fleksibel dalam menyesuaikan struktur substrat. Ikatan antara enzim dan substrat dapat berubah menyesuaikan dengan substrat.

#### II.10.5. Inhibitor

Merupakan zat yang dapat menghambat kerja enzim. Bersifat reversible dan irreversible. Inhibitor reversible dibedakan menjadi inhibitor kompetitif dan nonkompetitif (Gbr III.1 ).

##### a. Inhibitor kompetitif

Menghambat kerja enzim dengan menempati sisi aktif enzim. Inhibitor ini bersaing dengan substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim. Pengambatan bersifat reversibel (dapat kembali seperti semula) dan dapat dihilangkan dengan menambah konsentrasi substrat.

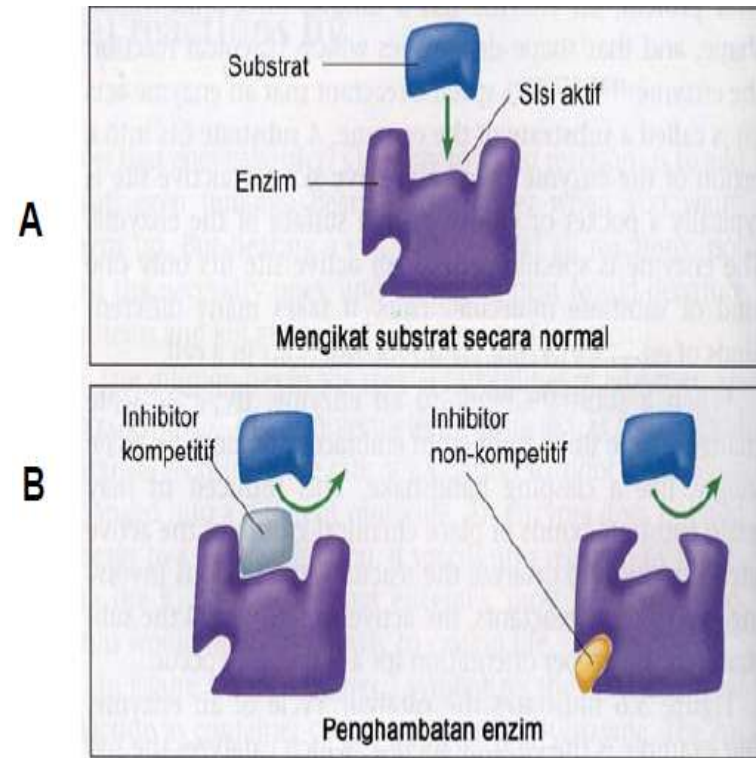
Inhibitor kompetitif misalnya malonat dan oksalosuksinat, yang bersaing dengan substrat untuk berikatan dengan enzim suksinat dehidrogenase, yaitu enzim yang bekerja pada substrat oseli suksinat.

##### b. Inhibitor nonkompetitif

Inhibitor ini biasanya berupa senyawa kimia yang tidak mirip dengan substrat dan berikatan pada sisi selain sisi aktif enzim. Ikatan ini menyebabkan perubahan bentuk enzim sehingga sisi aktif enzim tidak sesuai lagi dengan substratnya. Contohnya antibiotik penisilin menghambat kerja enzim penyusun dinding sel bakteri. Inhibitor ini



bersifat reversible tetapi tidak dapat dihilangkan dengan menambahkan konsentrasi substrat.



Gambar III.1. A. Kerja enzim seperti gembok-anak kunci, B. Inhibitor kompetitif dan non kompetitif (Campbell, 2006)

c. Inhibitor irreversibel

Inhibitor ini berikatan dengan sisi aktif enzim secara kuat sehingga tidak dapat terlepas. Enzim menjadi tidak aktif dan tidak dapat kembali seperti semula (irreversible). Contohnya, diisopropilfluorofosfat yang menghambat kerja asetilkolin-esterase.

Enzim adalah biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis (senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi) dalam suatu reaksi kimia organik.[1][2] Molekul awal yang disebut substrat akan dipercepat perubahannya menjadi molekul lain yang disebut produk. Jenis produk yang akan dihasilkan bergantung pada suatu kondisi/zat, yang disebut promotor. Semua proses biologis sel memerlukan enzim agar dapat berlangsung dengan cukup cepat dalam suatu arah lintasan metabolisme yang ditentukan oleh hormon sebagai promotor.

Enzim bekerja dengan cara bereaksi dengan molekul substrat untuk menghasilkan senyawa intermediet melalui suatu reaksi kimia organik yang membutuhkan energi aktivasi lebih rendah, sehingga

percepatan reaksi kimia terjadi karena reaksi kimia dengan energi aktivasi lebih tinggi membutuhkan waktu lebih lama. Sebagai contoh:



Meskipun senyawa katalis dapat berubah pada reaksi awal, pada reaksi akhir molekul katalis akan kembali ke bentuk semula.

Sebagian besar enzim bekerja secara khas, yang artinya setiap jenis enzim hanya dapat bekerja pada satu macam senyawa atau reaksi kimia. Hal ini disebabkan perbedaan struktur kimia tiap enzim yang bersifat tetap. Sebagai contoh, enzim  $\alpha$ -amilase hanya dapat digunakan pada proses perombakan pati menjadi glukosa.

Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, terutama adalah substrat, suhu, keasaman, kofaktor dan inhibitor. Tiap enzim memerlukan suhu dan pH (tingkat keasaman) optimum yang berbeda-beda karena enzim adalah protein, yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu dan keasaman berubah. Di luar suhu atau pH yang sesuai, enzim tidak dapat bekerja secara optimal atau strukturnya akan mengalami kerusakan. Hal ini akan menyebabkan enzim kehilangan fungsinya sama sekali. Kerja enzim juga dipengaruhi oleh molekul lain.

Inhibitor adalah molekul yang menurunkan aktivitas enzim, sedangkan aktivator adalah yang meningkatkan aktivitas enzim. Banyak obat dan racun adalah inhibitor enzim.

## BAB III METODOLOGI

### III. 1 BAHAN DAN ALAT

#### III.1.1 Bahan kimia :

Ascorbic acid, trichloroacetic acid (TCA), xanthineoxidase, hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), methanol, n-hexene, n-butanol, hydrochloric acid (HCl), sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), sulfuric acid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), sodium phosphate ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ), ammonium molybdate, curcumin, karbohidrat kentang,  $\alpha$ -amylase, sodium potassium tartarate tetrahydrate, sodium hydroxide (NaOH), Tris-HCl, 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS), sodium chloride (NaCl), maltose, sodium disulphite ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ), glucose, buthylated hydroxytoluene (BHT), eisen (III) chloride ( $\text{FeCl}_3$ ), etilen diamine tetra acetic acid (EDTA), disodium hydrogen phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), sodium dihydrogene phosphate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), dipotassium hydrogen phosphate ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) sodium dihydrogene phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) diberikan dari Merck (Darmstad, Germany). Thiobarbituric acid (TBA), xanthine, nitroblue tetrazolium (NBT), 2,2,-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH),  $\alpha$ -glucosidase, paranitrophenol- $\alpha$ -D-

glucopyranoside (pNPG) diberikan dari Sigma (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Germany).

### **III.1.2 Koleksi Material Tanaman**

Daun – daunan *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., dikoleksi pada Juni 2006 dari Adana di Turkey, diidentifikasi pada Departemen Biology Cumhuriyet University oleh Dr. Erol DÖNMEZ. Spesimen voucher dari tanaman ED (14253) yang didepositkan di Herbarium Laboratory Departemen Biology pada University of Cumhuriyet (CU).

### **III.1.3 Ekstraksi Essential Oil**

Daun - daunan *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. tampak seperti warna daun kering dan digunakan untuk distilasi air selama 3 jam menggunakan Clevenger-type apparatus (yield 0.254% v/w). Essential oil ditempatkan pada +4 °C hingga testing dan analysis.

### **III.1.4 Peralatan :**

Unicam UV spectrometer, electro.mag M16 heater-stirrer, Gec Avery weight, Memmert water-bath, Labor alliance heater-jacket, Jenway 3010 pH meter, electro.mag vortex, B.Braune homogenizatore dan Centrifuge 5810 R centrifugatore digunakan dalam prosedur experimental.

### **III.2 PROSEDUR PERCOBAAN**

#### **III.2.1 Gas Chromatography (GC)**

Analisis GC essential oil diperforma menggunakan Trace-GC-ultra dengan kolom kapilary INNOWAX (panjang 60 m, diameter dalam dan film hickness masing – masing 0.25 mm dan 0.25  $\mu$ m). Gas Helium digunakan sebagai pembawa pada laju alir 1 ml.min<sup>-1</sup>. Injector dan MS transfer line temperatures diset masing – masing pada 200 dan 250 °C. Suhu oven GC dijaga pada 50 °C selama 2 min, lalu meningkat menjadi 250°C pada laju 5 °C.min<sup>-1</sup> dan selama 5 min. Pengenceran sampel (1:100 v/v, dalam acetone) 1.0 ml diinjeksi secara manual dalam splitless mode.

#### **III.2.2 Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)**

Analisis dikonduksi di bawah kolom yang sama dan kondisi dengan GC interfaced dengan FINNIGAN Trace-DSQ mass spectrometer (energy ionisasi 70 eV). Jarak massa m/z dari 50 - 450. Identifikasi komponen didasarkan pada komparasi indeks retensi relatif dan spektrum massa dengan yang ada pada standar data perpustakaan dan NIST dari sistem GC/MS.

### III.2.3 Aktifitas pembilasan radikal Hydroxyl kapasitas antioksidatif.

Aktifitas pembilasan (scavenging) radikal Hydroxyl dilakukan oleh pengukuran radikal hydroxyl yang digenerated dari sistem  $\text{Fe}^{3+}$ /ascorbate/EDTA/ $\text{H}_2\text{O}_2$  [18]. Serangan radikal hydroxyl terhadap deoxyribose mengarahkan untuk formasi thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) [19]. Variasi konsentrasi sampel (essential oil dan 3 komponen mayor) (dalam n-hexene) ditambahkan pada campuran reaksi yang mengandung 3.0 mM deoxyribose, 0.1 mM  $\text{FeCl}_3$ , 0.1 mM EDTA, 0.1 mM ascorbic acid, 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan 20 mM phosphate buffer (pH 7.4), pada volume akhir 3.0 ml. Campuran reaksi diinkubasi pada 37 °C selama 1 jam. Lalu, 1 ml thiobarbituric acid (TBA, 1%) dan 1.0 ml trichloroacetic acid (TCA, 2.8%) ditambahkan kepada pipa test dimana mereka diincubasikan pada 100 °C selama 20 min. Setelah campuran didinginkan, absorbance diukur pada 532 nm terhadap blanko yang mengandung deoxyribose dan buffer. Persentasi inhibisi (I) degradasi deoxyribose dikalkulasi dengan cara di bawah ini :

$$\%I = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$



dimana  $A_0$  adalah absorbance reaksi control (mengandung semua reagents kecuali komponen test) dan  $A_1$  adalah absorbance komponen test.

#### **III.2.4 Inhibisi radikal superoxide.**

Generasi radikal superoxide oleh sistem xanthine/xanthine oxidase ditentukan secara spectrophotometrik dengan monitoring produksi nitroblue tetrazolium (NBT) [20]. Variasi konsentrasi sampel (dalam n-hexene) ditambahkan ke dalam campuran reaksi mengandung 2 nM xanthine, 12 nM NBT, 1.0 U ml<sup>-1</sup> xanthine oxidase, dan 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4), membuat volume final 2.0 ml. Setelah incubasi campuran pada 25 °C selama 10 min, absorbance dibaca pada 560 nm dan dikomparasi dengan sampel control yang tidak termasuk dalam enzyme.

#### **III.2.5 Aktifitas pembilasan hydrogen peroxide.**

Kemampuan essential oil untuk membilas hydrogen peroxide ditentukan dengan spectrophotometri sebagaimana dideskripsikan sebelumnya [21]. Secara singkat, larutan hydrogen peroxide (2 mM) dipreparasi dalam 0.17 M phosphate buffer (pH 7.4). Variasi konsentrasi sampel (dalam methanol) ditambahkan kepada campuran reaksi yang

mengandung 2 mM hydrogen peroxide. Setelah 10 min incubasi pada temperature kamar, absorbance dibaca terhadap blanko pada 230 nm.

#### **III.2.6 Pengujian inhibisi Lipid peroxidasi.**

Pengujian untuk nonenzymatic lipid peroxidasi performa dideskripsikan [22]. Dengan perubahan kecil. Hati tikus (25% (w/v)) dihomogenkan dengan 40 mM Tris-HCl buffer (pH 7.0) dalam 3 strokes. Homogenate dicentrifuge pada 10,000 g selama 120 min dan supernatant digunakan dalam studi experimental. Satu ml sample campuran reaksi mengandung 100 µl konsentrasi berbeda sampel essential (in n-hexene), 100 µl supernatant, 20 µl 1 mM FeCl<sub>3</sub> dan 20 µl 1 mM ascorbic acid untuk induce generasi radikal hydroxyl. Setelah periode incubation 1 jam pada 37 °C, luas lipid peroxidasi diukur oleh reaksi TBA. Lalu, 1 ml TBA dan 1.0 ml 2.8% TCA ditambahkan dan botol test dipanaskan hingga 100 °C selama 20 min. Setelah pendinginan, 2.5 ml n-butanol ditambahkan dan dicentrifus pada 3500 rpm selama 5 min. Absorbance dibaca pada 532 nm.

#### **III.2.7 Pengujian DPPH.**

Pengujian DPPH diukur dengan mengikuti bleaching larutan purple methanol DPPH [23]. Variasi konsentrasi sampel (dalam methanol) ditambahkan hingga 5 ml 0.004% larutan DPPH dalam

methanol. Setelah 30 min incubation pada temperatur kamar, absorbance dibaca terhadap blanko pada 517 nm. Semua experiments direplikasi 3 x dan semua persentasi nilai inhibisi dikalkulasi dalam line dengan persamaan dalam metode pembilasan untuk radikal hyrdoxyl.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### IV.1 Komposisi Kimia Essential Oil

Sebagaimana aktifitas biologi essential oil ditentukan oleh komponen yang terkandung dalam oil, kami pertama kali menentukan komposisi kimia essential oil. A GC/GC-MS analysis mengidentifikasi 29 komponen bahwa terhitung untuk 99.10% konten essential oil eucalyptus, dengan *p*-cymene (68.43%), 1,8-cineole (13.92%), 1-(S)- $\alpha$ -pinene (3.45%) dan R-(+)-limonene (2.84%) sebagai constituent utama (Table 1). Oil daun *E. camaldulensis* Dehn. dari Mozambique diberikan oleh hydrodistilasi dan ekstraksi supercritical carbon dioxide yang dikomparasi menurut komponen mayornya. Komponen mayor oil diberikan oleh hydrodistilasi adalah 1,8-cineole (43%), alpha-pinene (5.5%), beta-pinene (3.4%), *p*-cymene (5.2%), terpinen-4-ol (3.1%), dan globulol (4.1%). Ekstrak diberikan oleh ekstraksi superkritis carbon dioxide mempunyai jumlah alloaromadendrene dan globulol lebih tinggi, tetapi mempunyai 1,8-cineole, alpha-pinene, beta-pinene, dan terpinen-4-ol lebih rendah [28]. Essential oil *E. camaldulensis* Dehn. buah dan komponen utama ditemukan dalam volatile oil adalah : aromadendrene

(6.45-15.02%), eucalyptol (0.17-12.61%), gamma-gurjunene (8.40-10.08%), terpinolen (1.98-8.39%), spathulenol (1.42-8.34%), alpha-pinene (0.85-6.81%), ledene (0.94-6.72%), dan longifonene (0.07-6.22%) [29]. Hasil ini memperlihatkan bahwa komposisi kimia essential oil dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor; iklim, kondisi yang ada, dan lain - lain. Herbal essential oil original mempunyai aktifitas biologi berbeda yang disebabkan oleh monoterpenes yang menjadi komponen utamanya; herbal essential oil adalah komposisi terbanyak monoterpenes, sesquiterpenes dan derivatif oxygeniknya [30].

#### **IV.2 Aktifitas antioxidant Essential Oil**

Aturan antioxidants dalam mencegah penyakit variasi degeneratif dan yang berkaitan dengan usia, disebabkan oleh stress oksidatif, yang menjadi meningkat melalui experimental, klinis dan studi epidemiologi; lalu, antioxidants telah dimulai untuk mendapatkan yang lebih penting. Bagaimanapun, sejak itu dinyatakan bahwa synthetic antioxidants menyebabkan gangguan liver dan mempunyai sifat – sifat carcinogenic, yang telah difokuskan mendekati antioxidant natural [31].

Nilai IC50 (konsentrasi essential oil untuk 50% inhibisi) essential oil dan standard positif untuk ROS dan inhibisi DPPH dipresentasikan

dalam tabel IV.1. Aktivitas pembilasan radikal hydroxyl diuji oleh pengukuran radikal hydroxyl yang digeneratekan dari sistem  $\text{Fe}_3^+/\text{ascorbate}/\text{EDTA}/\text{H}_2\text{O}_2$ . Hal itu menentukan bahwa aktivitas pembilasan radikal hydroxyl essential oil eucalyptus possesses lebih baik daripada BHT dan curcumin, yang digunakan sebagai positive controls.

**Tabel IV.1.** Analysis GC-MS Essential Oil dari *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh.

Komponen	aRT	bRI	c%
5-Amino-4-cyano-3-(4-ethylaminobutyl) pyrasole	8.62	785	0.01
1-(S)- $\alpha$ -pinene	13.78	915	3.45
Trance-oxobycycle[3.3.0]oct-7-en-2-on,4-methoxy-7-methyl	14.62	932	0.03
$\alpha$ -Methyl-benzenmethanol	16.22	964	0.24
2- $\alpha$ -Pinene	16.60	972	0.24
Bicyclo[3.1.0]hex-2-en, 4-methylene-1-(1-methylethyl)	17.15	1237	0.84
l-Phellandrene	18.33	1006	1.35
$\alpha$ -Terpinene	18.78	1014	1.30
R-(+)-limonene	19.40	1026	2.84
1,8-Cineole	19.77	1033	13.92
$\gamma$ -Terpinene	20.78	1052	0.77
2-Methylprop-1-enyl-cyclohexa-1,5-dien	21.05	1057	0.21

Komponen	aRT	bRI	c%
<i>p</i> -Cymene	21.67	1068	68.43
$\alpha$ -Terpinolene	21.98	1074	0.19
<i>p</i> -Ment-1-en-3,8-diol	23.30	1099	0.09
3-Methyl-2-(2-penthenyl)cyclopentanone	25.39	1138	0.03
Linalool oxide fraction (2)	26.33	1156	0.18
$\alpha$ -Thujone	26.87	1166	0.34
Linalool oxide fr (1)	27.12	1171	0.10
$\alpha$ -Campholen aldehyde	28.11	1189	0.07
L-Linalool	28.56	1198	0.13
Trance-cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)	29.27	1112	0.08
2-Cyclohexane-1-on, 6-methyl-3-(1-methylethyl)	29.71	1220	0.09
(R)-2-Cyclohexane 1-on, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)	30.28	1232	0.04
4-(1-Methylethyliden)cyclohexanone	30.63	1239	0.31
1,4-Terpineole	30.74	1241	2.56
Trance-pinocarveol	32.23	1270	0.77
<i>p</i> -Ment-1-en-8-ol	32.89	1283	0.45
Trance-pinocarvilacetate	33.00	1296	0.04
Total			99.10

a waktu Retensi (min).

b relatif indeks Retensi terhadap (c8-c16) n-alkana.

c%, Proporsi relatif essential oil componen diekspresikan sebagai % GC-MS.

Aktifitas pembilasan radikal hydroxyl Curcumin's lebih tinggi daripada BHT. Karena ascorbic acid adalah component pengujian, tidak digunakan sebagai standar positif untuk pembilasan radikal hydroxyl. Walaupun nilai IC50 dari 1,8-cineole diobservasi, tetapi nilai IC50 dari *p*cymene dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene tidak ditentukan. Persentasi dan konsentrasi tertinggi inhibisi pembilasan radikal hydroxyl dari *p*-cymene dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene, masing – masing 16.98% (1.11  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>) dan %28.75 (2.42  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>). Essential oil dan standar positif juga diperoleh untuk membilas radikal superoxide (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) yang diaktifkan oleh sistem xanthine dan oksidasi xanthine. Sama seperti aktifitas pembilasan radikal hydroxyl, kapasitas tertinggi essential oil diperlukan untuk membilas radikal superoxide.

Aktifitas standar pembilasan radikal superoxide menurun dalam order di bawah ini : masing – masing curcumin, BHT dan ascorbic acid. Nilai IC50 *p*-cymene, 1,8-cineole dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene tidak diobservasi. Persentasi dan konsentrasi inhibisi radikal superoxide tertinggi dari *p*-



cymene, 1,8-cineole dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene, masing – masing adalah 38.88% (0.340  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>), 42.20% (0.238  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>) dan 26.67% (1.136  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>). Terlihat bahwa essential oil mempunyai aktifitas pembilasan hydrogen peroxide yang lebih rendah lalu curcumin digunakan sebagai positive control. Essential oil ditemukan untuk mendapatkan aktifitas pembilasan hydrogen peroxide yang lebih tinggi daripada positive controls lainnya , BHT dan ascorbic acid. Aktifitas pembilasan hydrogen peroxide BHT sama seperti pada essential oil dan lebih baik daripada ascorbic acid. Sama seperti aktifitas pembilasan superoxide, nilai IC50 dari *p*-cymene, 1,8-cineole dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene tidak diobservasi. Persentasi dan konsentrasi inhibisi hydrogen peroxide tertinggi untuk *p*-cymene, 1,8-cineole dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene adalah masing – masing 25.51% (0.98  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>), 26.81% (1.22  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>) dan 20.85% (1.95  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>). Studi epidemiologi memperlihatkan bahwa peningkatan lipid peroksidasi terjadi dalam plasma lipoproteins, erythrocyte membrane lipids dan variasi jaringan dalam diabetes [32]. Essential oil ditemukan untuk secara efektif inhibit non-enzymatic lipid peroxidation dalam hati tikus homogenates lebih efektif daripada standar positif, sebagaimana diindikasikan oleh penurunan formasi thiobarbituric acid-reactive

substance (TBARS). diobservasikan bahwa curcumin lebih aktif daripada BHT dalam inhibisi lipid peroxidation. Nilai IC<sub>50</sub> dari *p*-cymene, 1,8-cineole dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene diobservasi selama inhibisi lipid peroxidasi. Aktivitas inhibisi lipid peroxidasi 3 komponen utama essential oil meningkat dalam order di bawah ini : *p*-cymene, 1-(S)- $\alpha$ -pinene dan 1,8-cineole. Dalam kehadiran antioxidants, karakteristik warna ungu DPPH terlihat cerah. Dengan spectrophotometri essential oil di bawah ini, dipreparasi oleh pelarutan dalam methanol, bleaching 0.004% larutan DPPH digunakan untuk menentukan formasi radikal inhibisi DPPH. Hasil ini memperlihatkan bahwa essential oil di-possessed aktivitas reduksi tertinggi dari semua sampel.

Mengenai standar positif, ascorbic acid mempunyai aktivitas reduksi radikal DPPH tertinggi diikuti oleh curcumin. Aktivitas terendah diobservasi untuk BHT. Nilai IC<sub>50</sub> dari *p*-ymene, 1,8-cineole dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene tidak diobservasi untuk aktivitas DPPH pembilasan radikal. Persentasi dan konsentrasi tertinggi inhibisi DPPH untuk masing - masing *p*-ymene, 1,8-cineole dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene adalah 37.65% (125  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>), 42.65% (125  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>) dan 40.37% (125  $\mu$ l ml<sup>-1</sup>). Komponen *p*-cymene, 1,8-cineole dan 1-(S)- $\alpha$ -pinene menajamkan struktur

monoterpene. Terpenes, termasuk monoterpene, merupakan kelas terbesar dari metabolit sekunder. Ada studi beragam yang mana mengolah bahwa *p*-cymene mempunyai aktifitas rendah atau tanpa antioxidant [33]. Studi terbaru telah mengindikasikan bahwa 1-(S)- $\alpha$ -pinene dan 1,8-cineole mempunyai aktifitas antioxidant, juga [34]. Aktifitas antioxidant essential oil dapat dikaitkan terhadap kehadiran beberapa komponen yang mempunyai aktifitas antioxidant [35]. Walaupun sejumlah komponen disini relatif rendah dalam oil, efek antagonistik yang mungkin dan synergistik komponen dalam oil yang juga dapat diambil ke dalam konsiderasi [36].

Hydroxyl, superoxide dan aktifitas essential oil DPPH scavenging *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. ditemukan bahwa secara significant lebih tinggi daripada components utama oil dan standard compounds. Aktifitas pembilasan yang lebih tinggi dari essential oil dapat dijelaskan dengan asumsi bahwa efek synergistic dari components dalam essential oil atau komponen minor yang mempunyai aktifitas pembilasan radical. Dalam pengujian pembilasan hydrogen peroxide, essential oil yang didemonstrasikan mempunyai aktifitas pembilasan yang lebih effectif daripada komponen mayor dan ascorbic

acid digunakan sebagai komponen standar. Aktivitas essential oil membasil hydrogen peroxide sama seperti BHT tetapi lebih rendah daripada curcumin. Sifat inhibisi lipid peroxidation dari essential oil lebih rendah daripada 1,8-cineole tetapi lebih tinggi daripada 2 komponen utama dan standards lainnya. Ini memperlihatkan bahwa 1,8-cineole secara antagonistik mengesankan komponen lain dalam oil.

Tumbuh – tumbuhan telah digunakan untuk treatment penyakit yang sangat lama. Karena harmful side-effects dari produk synthetic dan fakta bahwa tanaman itu mudah diakses, minat dalam obat – obatan herbal origin mempunyai peningkatan signifikan. Riset scientific telah dikonduksikan ke seluruh dunia untuk menentukan yang mana tumbuh – tumbuhan yang secara tradisional digunakan untuk treat berbagai penyakit yang mana secara actual appropriate untuk their intended use.

## **BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

### **V.1 KESIMPULAN**

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat 29 komponen teridentifikasi dalam 99.10% total oil. Komponen terbesar dari oil adalah *p*-cymene (68.43%), 1,8-cineole (13.92%), 1-(S)- $\alpha$ -pinene (3.45%) dan R-(+)- limonene (2.84%).
2. Essential oil *Eucalyptus Camaldulensis* Dehnh mempunyai sifat – sifat antioksidan.

### **V.2 SARAN**

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan agar meneliti sifat – sifat lainnya dari essential oil ini agar dapat diketahui apakah terdapat kontradiksi jika essential oil ini digunakan oleh pasien yang mempunyai beberapa penyakit yang disebabkan oleh defisiensi antioksidan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. [www.gogle.com](http://www.gogle.com) Fungsi Antioksidan Bagi Tubuh dan Darimana Asalnya, Posted byAdmin on October 28, 2011
2. [www.gogle.com](http://www.gogle.com) Antioksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan January 24, 2007 · Filed under Articles
3. [www.google.com](http://www.google.com) Antioksidan dan sumber-sumbernya
4. [www.google.com](http://www.google.com) Mekanisme kerja antioksidan
5. [www.google.com](http://www.google.com) Peranan antioksidan pada kesehatan
6. [www.google.com](http://www.google.com) Antioksidan vs kardiovaskular dan kanker
7. [www.google.com](http://www.google.com) Enzim dan Peranannya
8. Komposisi Kimia Essential oil 4 species Eucalyptus (Myrtaceae) dari Egypt, (2011), El-Mageed AAA; Osman AA, Tawfik dan Mohammed HA, Departemen Botany, fakultas Science, South Valley University, Egypt.
9. Natural products drug discovery research in India : Status and Appraisal (2010), Kamlesh k Bhutani dan Vikrantsinh M Gohil, departemen Natural Product, National Institut of Pharmaceutical education and Research, SAS Nagar, India.

10. J.B. Jeong, J.H. Park, H.K. Lee, S.Y. Ju, S.C. Hong, J.R. Lee, G.Y. Chung, J.H. Lim, H.J. Jeong, Food Chem. Toxicol. 47 (2009) 525.
11. L. Packer, E. Cadenas, K.J.A. Davies, Free Radical Biol. Med. 44 (2008) 123.
12. T. Jung, A. Höhn, B. Catalgol, T. Grune, Arch. Biochem. Biophys. 483 (2009) 127.
13. M. Genestra, Cell. Signal 19 (2007) 1807. P.G. Wells, G.P. McCallum, C.S. Chen, J.T. Henderson, C.J. Lee, J. Perstin, T.J. Preston, M.J. Wiley, A.W. Wong, Toxicol. Sci. 108 (2009) 4.
14. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M.T. Cronin, M. Mazur, J. Telser, Int. J. Biochem. Cell. Biol. 39 (2007) 44.
15. J.S. Kim, C.S. Kwon, K.H. Son, Biosci. Biotechn. Biochem. 64 (2000) 2458.
16. P. McCue, Y.I. Kwn, K. Shetty, Asia Pacific J. Clin. Nutr. 14 (2005) 145.
17. A. Barra, V. Coroneo, S. Dessi, P. Cabras, A. Angioni, J. Agric. Food Chem. 55 (2007) 7093.
18. B. Bozin, N. Mimica-Dukic, I. Samojlik, E. Jovin, J. Agric. Food Chem. 55 (2007) 7879.
19. T. Baytop, Theraphy with Medicinal Plants in Turkey (Past and Present), Nobel Tıp Press, İstanbul, 2000.
20. A.C. Toloza, A. Lucia, E. Zerba, H. Masuh, M.I. Picollo, Bioresour. Technol. 99 (2008) 7341.
21. M. Falahati, N.O. Tabrizib, F. Jahaniani, Iran. J. Pharm. Therapeutics 4 (2005) 80.
22. T. Hasegawa, F. Takano, T. Takata, M. Niiyama, T. Ohta, Phytochem. 69 (2008) 747.

23. I.A. Ross, N.J. Totowa, Medicinal Plants of the World, Vol. 2, Chemical Constituents,
24. Traditional and Modern Medicinal Uses, Humana Press, 2001.
25. E. Kunchandy, M.N.A. Rao, Int. J. Pharmacol. 5 (1990)
26. H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi, Anal. Biochem. 95 (1979) 51.
27. J. Robak, R.J. Gryglewski, Biochem. Pharmacol. 37 (1988) 837.
28. R.J. Ruch, S.J. Cheng, J.E. Klaunig, Carcinogenesis 10 (1989) 1003.
29. P.J. Houghton, R. Zarka, B. de la Heras, J.R.S. Houlst, Planta Med. 61 (1995) 33.
30. M. Cuendet, K. Hostettmann, O.H. Potterat, Helv. Chim. Acta 80 (1997) 1144.
31. S.S. Deshpande, S.K. Sathe, D.K. Salunkhe, D.P. Cornforth, J. Food Sci. 47 (1982) 440.
32. M. Honda, Y. Hara, Biosci. Biotechn. Biochem. 7 (1993) 123.
33. Y.J. Shim, H.K. Doo, S.Y. Ahn, Y.S. Kim, J.K. Seong, I.S. Park, B.H. Min, J. Ethnopharmacol. 85 (2003) 283.
34. J. da Cruz Francisco, E.P. Järvenpää, R. Huopalahti, B. Sivik, J. Agric. Food Chem. 49 (2001) 2339.
35. M.Z. Ozel, F. Göğüs, A.C. Lewis, J. Chromatogr. Sci. 46 (2008) 157.
36. I. Rasooli, P. Owlia, Phytochem. 66 (2005) 2851.
37. U.N. Wanasundara, F. Shahidi, Food Chem. 63 (1998) 335.
38. H.J. Kim, F. Chen, C. Wu, X. Wang, H.Y. Chung, Z. Jin, J. Agric. Food Chem. 52 (2004) 2849.
39. M.L. Magwa, M. Gundidza, N. Gweru, G. Humphrey, J. Ethnopharmacol. 103 (2006) 85.



40. L.C. Obame, J. Koudou, J.C. Chalchat, I. Bassolé, P. Edou, A.S. Ouattara, A. Traore, Scientific Research and Essays 11 (2007) 491.
41. F. Zhou, B. Ji, H. Zhang, H. Jiang, Z. Yang, J. Li, J. Li, Y. Ren, W. Yan, J. Food Prot. 70 (2007) 1704.
42. R. Srivatsan, S. Das, R. Gadde, K. Manoj-Kumar, S. Taduri, N. Rao, B. Ramesh, A. Baharani, K. Shah, S.C. Kamireddy, G. Priyatham, T.A. Balakumaran, S.S. Balakumaran, A. Kamath, A. Rao, Arch. Iran Med. 12 (2009) 121.

## BIOGRAFI PENULIS

Nama : Sajaratud Dur  
Tempat lahir : Medan  
Tanggal lahir : 13 Oktober 1973  
SD : SDN No.060887 Medan (1980-1986), Jalan  
Sei.Tuan No.52 Medan  
SMP : SMPN 17 Medan (sekarang 19, 1986-1989), Jalan  
Ayahanda / Agenda No.34 Medan  
SMA : SMAN 4 Medan (1989-1992), Jalan Ayahanda /  
Gelas No.4 Medan  
Strata 1 : ITM Medan (1992-1998), Jalan Gedung Arca  
No.52 Medan  
Strata 2 : ITSN Surabaya (2001-2003) Jalan A.R.Hakim,  
kelurahan Keputih Kecamatan Sukolilo Surabaya  
Strata 3 : USU Medan (2011-sekarang dalam masa  
pendidikan), Jalan Dr. Mansyur No.9 Medan